



## Corantes Alimentícios Amarantho, Eritrosina B e Tartrazina, e seus possíveis Efeitos Maléficos à Saúde Humana

Lucas de Barros Anastácio<sup>1</sup>, Danielle Aparecida Oliveira<sup>1</sup>,  
Camila Rocha Delmaschio<sup>1</sup>, Lusânia Maria Gregg Antunes<sup>2</sup>,  
Farah Maria Drumond Chequer<sup>3\*</sup>

1 – Graduação em Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade de Itaúna (UIT), Itaúna, MG, Brasil.  
2 – Professora Associada, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil. 3 – Farmacêutica, Pós-doutorado em Ciências da Saúde, Professora nas instituições: Universidade de Itaúna (UIT) e Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil.

\*Autor correspondente: farahchequer@farmacia.ufmg.br

**Resumo:** O uso dos corantes alimentícios, para fins industriais, disseminou-se nas últimas décadas. Seu uso tem diversos objetivos, desde uma melhora na aparência dos alimentos processados, até alterações no prazo de validade dos mesmos. Infelizmente, muitos destes corantes (em especial os sintéticos) possuem potencial para causar efeitos adversos aos seres humanos. Diante disso, o objetivo desta revisão é avaliar o potencial toxicológico, mutagênico e alergênico dos corantes amarantho, eritrosina B e tartrazina. Foi realizada uma revisão sistemática com busca de artigos científicos na base de dados PubMed utilizando dos seguintes descritores “Amaranth”, “Erythrosine B”, “Tartrazine”, associados, separadamente, com “Toxicity”, “Mutagenicity” e “Allergic”. Foram incluídos artigos publicados desde 2010 que avaliaram o potencial tóxico, mutagênico ou alergênico dos corantes investigados nesta revisão. Com os descritores supracitados, foram identificados 300 artigos. Após critérios de inclusão e exclusão, 12 artigos foram selecionados para fundamentar a presente revisão. Nos estudos selecionados observou-se que os três corantes, de modo geral, induzem danos no DNA, provocam mudanças no comportamento celular e afetam o metabolismo corporal de cobaias (principalmente as funções enzimáticas, hepáticas e concentrações de proteínas plasmáticas). Dado o exposto nessa revisão é imprescindível que as interações dos corantes com os seres humanos sejam melhores estudadas, além de que a aplicação e a legalização destas substâncias para uso em alimentos ocorra com maior cautela. **Palavras-chave:** Mutagenicidade; Toxicidade; Corante Alimentício.

**Abstract (Food Colors Amaranth, Erythrosine B and Tartrazine, and their possible harmful effects to Human Health):** The use of food dyes in the industry has disseminated in the last decades. Its use has several objectives, from an improvement in the appearance of processed foods, to change the expiration date thereof. Unfortunately, many dyes (particularly the synthetics) have the potential to cause adverse effects in humans. Thus, the aim of this review is to evaluate the potential toxicological, mutagenic and allergic effects of the dyes amaranth, erythrosine B and tartrazine. For the production of this review, the authors performed a search of scientific articles in the PubMed database using the descriptors "Amaranth", "Erythrosine B" and "Tartrazine" associated separately with "Toxicity" "Mutagenicity" and "Allergic". We included articles published since 2010 to assess the toxic, mutagenic or allergic potential of the dyes investigated in this review. With the above descriptors were identified 300 articles. After inclusion and exclusion criteria, 12 articles were selected to support this review. In selected studies, it was observed that the three dyes in general, induce DNA damage, cause changes in cell behavior and affect the body's metabolism from guinea pigs (mainly enzymatic activity, hepatic functions and the levels of plasma proteins). Given the exposed in this review, it is essential that the interactions of dyes with humans are better studied, as well as the application and the legalization of these substances for use in food occur with greater caution. **Key Words:** Mutagenicity; Toxicity; Food Dye.

## Introdução

Com o desenvolvimento tecnológico industrial, a indústria alimentícia lançou mão do uso disseminado de aditivos alimentares. Ela visa, assim, tentar melhorar as condições de estocagem e distribuição, oferecendo produtos com maior segurabilidade e atendendo à demanda do mercado<sup>1,2,3</sup>.

Antes da permissão do uso de determinado aditivo, faz-se necessária uma avaliação extensiva de sua capacidade tóxica, levando em conta propriedades específicas, sua capacidade de gerar efeitos colaterais e suas interações no organismo. Os aditivos alimentares devem ser mantidos sob constante observação e necessitam de avaliações recorrentes, baseadas nas variações das condições de utilização e em quaisquer novos dados científicos<sup>2,4</sup>.

Dentre os vários produtos submetidos ao controle e à fiscalização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), estão incluídos, como foi disposto em lei, os aditivos alimentícios e os coadjuvantes de tecnologia de fabricação. A principal discussão sobre o emprego de aditivos na produção de alimentos resulta da controvérsia entre a necessidade e a segurança de seu uso pois, mesmo que vários benefícios tenham sido alcançados pela utilização de tais aditivos na indústria dos alimentos, a preocupação acerca do risco toxicológico que o uso destas substâncias podem potencialmente acarretar aos consumidores, é legítima<sup>5,6</sup>.

Os corantes são alguns dos aditivos mais empregados na indústria alimentícia. A modificação da cor natural do alimento constitui-se em um fator fundamental para que este seja melhor aceito pelo mercado consumidor. Antes do paladar, os alimentos coloridos seduzem as pessoas pela visão, uma vez que a lógica do consumo desses produtos inicia-se pelos atrativos visuais. Em geral, a importância da aparência do produto para sua aceitabilidade é a maior justificativa para o emprego de corantes<sup>2,7,8</sup>.

Existem estudos que tentam demonstrar as reações adversas que podem ocorrer em consequência do uso de corantes alimentícios. Logo, o monitoramento dos teores de corantes em alimentos tem contribuído para um consumo consciente destes aditivos em alimentos. Todavia, opiniões divergem quanto à inocuidade dos diversos corantes artificiais. Portanto, pode haver o uso diferenciado de corantes em países ou regiões distintas, que podem permitir o emprego destas substâncias em quantidades diferentes, devido a seu maior ou menor consumo na dieta da população<sup>9,10</sup>.

A toxicidade dos corantes sintéticos e os riscos que estes podem causar à saúde é objeto de discussão atualmente. Problemas de saúde, como alergias, rinite, broncoconstrição, hiperatividade, danificação cromossômica ou tumores, têm sido reportados pela literatura, relacionando-os ao uso de corantes<sup>6,11-20, 44</sup>. O corante tartrazina, por exemplo, tem potencial expressivo para causar distúrbios de hipersensibilidade, afetando de 0,6% a 2,9% da população, com maior incidência em indivíduos intolerantes aos salicilatos ou nos indivíduos atópicos<sup>15,45</sup>. Outros pesquisadores também apontam que o dito aditivo, juntamente com os corantes amaranto e eritrosina B, são altamente consumidos em merendas escolares e estão presentes em diversos alimentos consumidos pelo público infantil. Interessantemente, pesquisas indicaram que, 60% das crianças, de um grupo testado, consumidoras de alimentos com alto teor destas substâncias têm maior tendência à desenvolver hiperatividade<sup>6,16,44</sup>. Entretanto, tais estudos são insuficientes e, por muitas vezes, contraditórios<sup>6,11-20,44</sup>.

Atualmente existem doze corantes permitidos, por lei, no Brasil, tanto de origens naturais quanto de origens sintéticas. Os corantes sintéticos são mais difundidos, por apresentarem menores custos de produção e maior estabilidade, tendo grande importância no meio industrial<sup>19-21</sup>. Dentre eles, destacam-se corantes como o amaranto, a eritrosina B e a tartrazina, que possuem aplicações muito diversas na

indústria alimentícia, desde seu uso em alimentos processados e laticínios, até em bebidas alcoólicas<sup>21</sup>.

O estudo consiste em uma revisão sistemática dos principais artigos que tratam dos possíveis efeitos adversos de corantes alimentícios. Sendo este o tema proposto, o artigo visa caracterizar a toxicidade, mutagenicidade e o possível potencial alergênico dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina, tendo em vista sua alta gama de aplicações nas indústrias alimentícias. Uma substância que apresenta potencial mutagênico significa que esta é capaz de causar alterações no material genético da célula (mutações). Mutação é, portanto, uma alteração súbita do material genético que é transmitida à descendência. Dependendo da linhagem celular em que ocorra, germinativa ou somática, a mutação passará, respectivamente, às novas gerações ou às células filhas.<sup>22</sup>

## Metodologia

Para a construção da base de artigos da revisão sistemática, foi utilizada uma metodologia específica. Fez-se uma revisão sistemática acerca dos possíveis efeitos tóxicos, mutagênicos ou alergênicos dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina, de acordo com as recomendações estabelecidas pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (Prisma)<sup>23</sup>. Tais critérios perpassam na maneira de estruturação textual do artigo (título, introdução, resultado, discussão e conclusão), critérios de elegibilidade e protocolo de busca dos artigos que baseiam a revisão sistemática e análise dos dados obtidos.

Primeiramente, a base de dados desta revisão constituiu-se de artigos pesquisados pelo banco de dados PubMed. No banco de dados em questão, foram procurados artigos científicos, na língua inglesa, que estavam relacionados, ou visavam avaliar, possíveis efeitos tóxicos,

mutagênicos ou alergênicos dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina. Após a definição dos objetivos, foram definidos os descritores a serem utilizados, sendo empregadas as seguintes palavras-chave (previamente consultadas nos DeCS – Descritores em Ciências da Saúde – da rede BIREME): “*Amaranth*”, “*Erythrosine B*” e “*Tartrazine*” combinadas, separadamente, com “*Toxicity*”, “*Mutagenicity*” e “*Allergic*”.

Após a pesquisa na base de dados selecionada, foram identificados um total de 300 artigos. Em seguida foram aplicados critérios de exclusão e inclusão, para definir os artigos-base a serem utilizados no estudo. Os critérios de exclusão baseavam-se na data de publicação dos artigos, sendo excluídos aqueles que datavam períodos anteriores à 2010, e os critérios de inclusão baseavam-se na análise do abstract dos artigos, de maneira a validar sua relevância. Tais critérios foram analisados de forma independente e cegada por dois autores do trabalho, expostos às informações gerais e aos abstracts dos artigos.

Após a utilização do critério de exclusão, foram descartados os artigos que não foram publicados no período pré-estabelecido, sendo selecionados apenas 50 artigos. Depois da primeira seleção, foram eleitos os artigos que passaram pelos critérios de inclusão. Foram selecionados 17 artigos, dentro dos quais 14 foram escolhidos para leitura completa, conforme é apresentado na Tabela 1, a qual resume os critérios de seleção de artigos, propostos pelos autores do presente trabalho. Posteriormente, dois artigos foram excluídos, pois apresentavam significativas divergências de abordagem e de objetivos, quando comparadas às publicações escolhidas para compor o trabalho. A Figura 1 mostra o diagrama de fluxo para a seleção dos artigos para o desenvolvimento desta revisão sistemática.

Tabela 1: Número de artigos selecionados para o desenvolvimento da revisão sistemática sobre a toxicidade, mutagenicidade e potencial alérgico dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina

Corantes	Palavras-chave associadas	Número de artigos encontrados	Artigos válidos após critério de exclusão	Artigos válidos após critério de inclusão
Amaranto	Amaranth AND Toxicity	81	15	2
	Amaranth AND Mutagenicity	14	2	0*
	Amaranth AND Allergic	13	2	0
Eritrosina B	Erythrosine B AND Toxicity	69	10	2
	Erythrosine B AND Mutagenicity	11	3	2
	Erythrosine B AND Allergic	5	2	1
Tartrazina	Tartrazine AND Toxicity	54	10	5
	Tartrazine AND Mutagenicity	14	2	1
	Tartrazine AND Allergic	39	4	4
Total de Artigos		300	50	17**

\* Os artigos encontrados neste caso já haviam sido classificados em outras palavras-chave

\*\* Foram encontrados um total de 17 artigos, dentre os quais apenas em 14 foi possível ter acesso ao texto completo

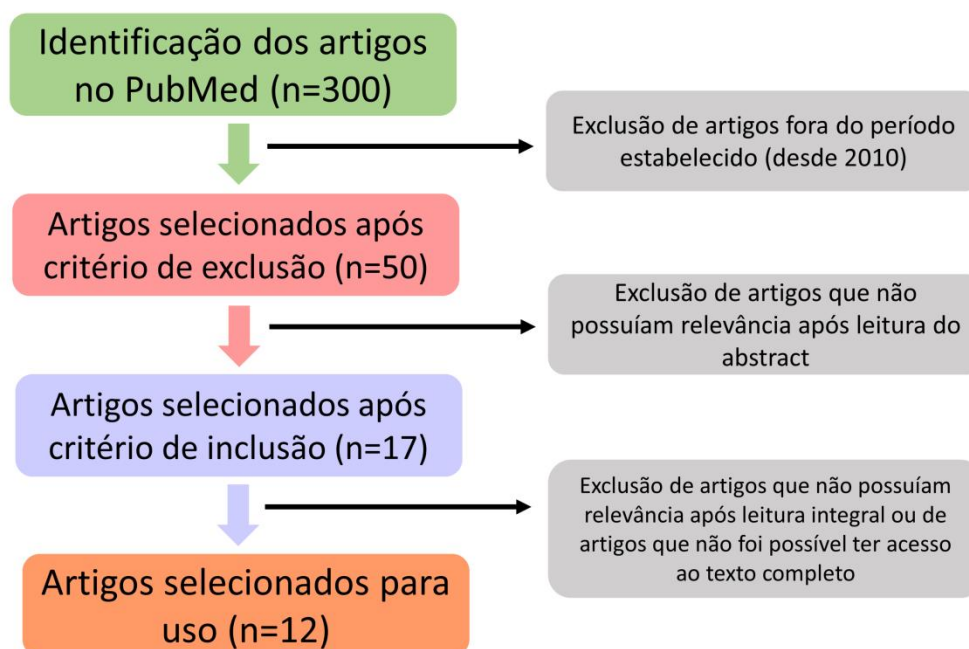


Figura 1: Diagrama de fluxo para a seleção dos artigos para o desenvolvimento da revisão sistemática sobre a toxicidade, mutagenicidade e potencial alérgico dos corantes amaranço, eriosina B e tartrazina.

## Resultados e Discussão

Os corantes alimentícios são usados para dar cor e alterar a aparência dos alimentos a eles associados. Alguns destes corantes apresentam, na literatura médica, efeitos potencialmente nocivos ao ser humano<sup>2,4</sup>. É o caso do amaranço, da eritrosina B e da tartrazina, corantes com respaldo legal para uso em território nacional, que vêm tendo sua utilização contestada devido ao seu potencial genotóxico, mutagênico e alergênico<sup>18, 24, 25</sup>. Eles fomentam a discussão da regulamentação do uso de aditivos alimentares, e pautam diversas pesquisas acerca dos malefícios

que tais substâncias podem vir a causar a seus consumidores.

Foram, portanto, utilizados 12 artigos para a escrita da discussão e resultados do presente artigo de revisão. As informações gerais dos artigos selecionados são apresentadas na Tabela 2. Serão expostos, a seguir, o resumo metodológico e os principais resultados dos artigos escolhidos para basear a presente revisão. Com isso, os autores esperam traçar um perfil do potencial toxicológico, mutagênico e alergênico dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina.

Tabela 2: Artigos incluídos na revisão sistemática sobre a toxicidade, mutagenicidade e potencial alérgico dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina

Primeiro Autor	Ano de Publicação	Objetivo principal	Corantes Analisados	Periódico de Publicação
Amin, K. A. <sup>38</sup>	2010	Avaliação dos efeitos dos azo corantes tartrazina e carmosina relacionados à parâmetros bioquímicos relacionados ao funcionamento renal e hepático, bem como os biomarcadores do estresse oxidativo, em ratos	tartrazina	Food and Chemical Toxicology
Axon, A. <sup>41</sup>	2012	Avaliar a influência dos xenoestrógenos tartrazina e amarelo crepúsculo na atividade transcricional dos receptores de estrogênio	tartrazina	Toxicology
Chequer, F. M. D. <sup>31</sup>	2012	Avaliar os efeitos genotóxicos e mutagênicos do corante eritrosina B em células HepG2	eritrosina B	Food and Chemical Toxicology
Doguc, D. K. <sup>29</sup>	2012	Avaliar os efeitos, na prole, da exposição materna à corantes alimentícios	amaranto, eritrosina B e tartrazina	Toxicology and Industrial Health
El-Wahab, H. M. F. A. <sup>39</sup>	2012	Avaliar os efeitos tóxicos de corantes ou flavorizantes alimentícios em ratos	tartrazina	Toxicology and Industrial Health
Jabeen, H. S. <sup>26</sup>	2013	Avaliar os efeitos genotóxicos do corante amaranço em linhagens da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	amaranto	Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology
Kashanian, S. <sup>42</sup>	2011	Investigar a interação do DNA tímico de vitelas ao corante tartrazina	tartrazina	DNA and Cell Biology
Matsuo, H. <sup>43</sup>	2013	Avaliar a elevação da liberação de histamina por drogas anti-inflamatórias não-esteroidais e aditivos alimentícios e investigar seus mecanismos de ação	tartrazina	Allergology International
Mpountoukas, P. <sup>27</sup>	2010	Avaliação citogênica e das interações com DNA, dos corantes amaranço, eritrosina B e tartrazina	amaranto, eritrosina B e tartrazina	Food and Chemical Toxicology
Pan, X. <sup>40</sup>	2011	Caracterizar a interação entre o corante tartrazina e duas albuminas (albumina humana e albumina bovina)	tartrazina	Journal of Agricultural and Food Chemistry
Sarıkaya, R. <sup>28</sup>	2012	Avaliação do potencial genotóxico de um grupo específico de corantes	amaranto e eritrosina B	Chemosphere
Yassunaka, N. N. <sup>32</sup>	2015	Avaliar a sensibilidade in vitro de bactérias patogênicas e residuais a Inativação fotodinâmica antimicrobiana utilizando o corante eritrosina B	eritrosina B	Current Microbiology

*Amaranto*

O amaranço é um corante de origem sintética, que apresenta coloração avermelhada. No presente momento, é um corante regulamentado para uso no Brasil pela Anvisa<sup>24</sup>, mas, desde 1976, foi banido dos Estados Unidos pela *Food and Drug Administration* (FDA) por suspeitas de ser uma substância carcinogênica<sup>25</sup>. Atualmente, pesquisas vem sendo feitas com este corante acerca de sua atividade genotóxica e citotóxica<sup>26-28</sup> e seus efeitos em transmissão vertical, de uma mãe para seus descendentes<sup>29</sup>.

Sabe-se que uma substância genotóxica é capaz de interagir com o DNA diretamente ou após ativação metabólica, causando danos na estrutura e/ou função da molécula de DNA<sup>30</sup>, sendo que quando ocorre um dano ao DNA a célula interrompe seu ciclo celular e tenta reparar a lesão através do sistema de reparo, presente em todos os organismos. Se houver sucesso no reparo, o ciclo celular prossegue, porém se houver falhas, a célula pode ser conduzida à senescência, apoptose ou mutação, que pode resultar em carcinogênese<sup>30</sup>, assim em termos da possível genotoxicidade do amaranço, Jabeen e colaboradores<sup>26</sup> exemplificaram que, em temperaturas aproximadas de 37 °C, usualmente comuns ao organismo humano, o corante produz lesões significativas ao DNA celular. Os resultados foram concluídos após análise dos dados obtidos pelo experimento proposto, no qual linhagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foram expostas a soluções de 9,76 à 5.000,00 µg/mL do corante amaranço. Quando mantidas em suspensão, em soluções que continham concentrações iguais ou superiores à 1.250,00 µg/mL do corante, as linhagens apresentavam, após análise de eletroforese, danos ao seu material genético.

Com um enfoque similar, Mpountoukas et al.<sup>27</sup> avaliaram os efeitos genotóxicos do corante amaranço em células sanguíneas periféricas. Para tal, foram aplicados os seguintes testes *in vitro*: avaliação da taxa de proliferação e índice mitótico (MI), experiências da mobilidade e deslocamento do DNA na eletroforese em gel de agarose, estudos de

ligação do DNA por titulação espectroscópica e teste de amplificação gênica em reação em cadeia da polimerase (PCR). Os testes foram conduzidos utilizando-se concentrações de 0,02; 0,20; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 e 8,00 nM (MI). 1,00; 2,00 e 3,00 mM (eletroforese e PCR) e concentração fixada de 10<sup>-5</sup>M (titulação espectroscópica).

O corante amaranço demonstrou afetar negativamente as taxas de proliferação celular e o índice mitótico das células testadas em concentrações superiores à 4,0 mM. Este estudo também demonstrou que o dito corante interage e estabelece ligações com moléculas de DNA, além de retardar a movimentação dos ácidos nucleicos em eletroforeses feitas em agarose. Em exposições prolongadas, no mesmo experimento, o corante apresentou efeito degradante no DNA, permitindo mudanças da eletroforese quando comparadas aos controles. O amaranço também teve capacidade para diminuir a eficiência da PCR, cujos fragmentos de DNA utilizados foram expostos previamente à esta substância<sup>27</sup>.

Também avaliando o potencial genotóxico do corante amaranço, Sarikaya e colaboradores<sup>28</sup> experimentaram, através do teste de Mutação e Recombinação Somáticas (SMART), se larvas de moscas da espécie *Drosophila melanogaster*, alimentadas com diferentes concentrações do corante (1; 1,25; 25 e 50 µg/mL), iriam apresentar mutações genéticas. Os resultados demonstraram que, concentrações de amaranço iguais ou superiores à 1,25 µg/mL, induziram a efeitos genotóxicos e a mutações genéticas, especialmente em doses mais elevadas.

Com abordagens metodológicas singulares Doguc et al.<sup>29</sup>, propuseram demonstrar os efeitos que a exposição materna ao amaranço (0,5 mg/kg/dia), durante a gravidez, poderia causar à prole. Para tanto, utilizaram de testes específicos (*Morris Water Maze*; teste de campo-aberto e teste de nado forçado) para avaliar as habilidades cognitivas, de aprendizado e comportamento dos ratos nascidos de mães alimentadas com o corante.

Ao final do experimento, os cientistas analisaram que a alimentação materna baseada no amaranço não altera, de maneira expressiva, o comportamento da prole nem tem efeitos adversos na memória ou aprendizado espacial hipocampo-dependente. Os autores hipotetizaram, no entanto, que a exposição ao corante pode correlacionar-se com a síndrome do transtorno do déficit de atenção (TDAH). Tal conclusão foi estabelecida devido a pequenas alterações na atividade locomotora, na atividade explorativa e nos níveis de ansiedade da prole exposta aos corantes maternalmente. Por outro lado, estas mudanças poderiam estar relacionadas à características secundárias dos ratos (como, por exemplo, o sexo), o que fomenta a necessidade de melhor estudo no que tange à transmissão vertical da toxicidade do corante amaranço<sup>29</sup>.

### Eritrosina B

A eritrosina B, também é um corante de origem sintética que apresenta coloração rósea. É regulamentada no Brasil pela Anvisa, desde o ano de 1977<sup>24</sup> sendo, atualmente, legalizada para uso industrial no país. Diferentemente do amaranço, a eritrosina B é um corante legalizado pela FDA<sup>25</sup>, apesar de indícios sobre seus efeitos tóxicos. Como dito, estudos atuais apontam para possíveis efeitos toxicológicos do corante eritrosina B. Foi descrito na literatura que o corante em questão possui propriedades genotóxicas e citotóxicas<sup>27,28,31</sup>, potencial antimicrobiano em terapia fotodinâmica<sup>32</sup>, além de, assim como o amaranço, ter potencial de causar efeitos adversos, em transmissão vertical, da mãe para a prole<sup>29</sup>.

Visando avaliar o potencial de genotoxicidade e mutagenicidade do corante eritrosina B, Chequer e colaboradores<sup>31</sup> realizaram os seguintes ensaios: o teste de cometa (Ensaio de Eletroforese em Gel de Célula Única, realizado em meio alcalino) e o Ensaio do Citoma Micronúcleo com Bloqueio da Citocinese (CBMN-Cyt), respectivamente, utilizando células HepG2, as quais são capazes

de produzir enzimas de primeira e segunda fase de modo a mimetizar o metabolismo *in vivo*. Essa linhagem apresenta morfologia semelhante ao epitélio e ao parênquima hepático, além de manter a capacidade de sintetizar e secretar a maioria das proteínas plasmáticas características das células normais do fígado humano<sup>33</sup>.

O Teste do Cometa (ou Ensaio de Eletroforese em Gel de Célula Única), além de ser um teste de genotoxicidade, é uma ferramenta de valor inestimável para a investigação de aspectos fundamentais de danos ao DNA. Assim sendo, o Ensaio do Cometa não é utilizado para detectar mutações, mas sim, lesões genômicas que, após serem processadas, podem resultar em mutação. Diferentes das mutações, as lesões detectadas por esse teste são passíveis de correção. O teste de cometa visa mensurar e analisar as lesões, monitorar o dano e detectar efeitos de reparo no DNA em células individuais expostas a agentes genotóxicos, na medida em que as células com dano aumentado no DNA mostram um aumento na migração de DNA cromossomal do núcleo em direção ao ânodo que se assemelha à forma de um cometa<sup>34-36</sup>. O teste de CBMN-Cyt, por sua vez, é uma técnica para medir o dano ao DNA, a citostase, e a citotoxicidade em diferentes tipos de tecido, na medida em que são analisados diversos eventos de danos ao DNA e avaliação de células necróticas ou apoptóticas<sup>37</sup>. Para a verificação das hipóteses apresentadas, foram utilizadas seis concentrações distintas do corante (0,1; 0,2; 2,0; 10,0; 25,0; 50,0 ou 70,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) expostas às células HepG2<sup>31</sup>.

Ao fim dos experimentos, Chequer et al.<sup>31</sup> comprovaram que a eritrosina B tem potencial genotóxico e mutagênico. Nas duas concentrações mais elevadas, o corante foi capaz de causar dano direto ao DNA celular, pelo Teste Cometa. Adicionalmente, efeitos mutagênicos foram observados em seis das sete concentrações testadas, após análise pelo CBMN-Cyt<sup>31</sup>.

Também visando analisar os efeitos genotóxicos da eritrosina B, Mpountoukas et



al.<sup>27</sup>, realizaram testes com células sanguíneas periféricas. Foram utilizados os mesmos protocolos experimentais do corante amarantho<sup>27</sup>. De modo semelhante ao corante amarantho, este trabalho evidenciou que a eritrosina B diminui a taxa de divisão mitótica de linfócitos sanguíneos e nas concentrações mais elevadas do corante (2, 4 e 8 mM) a toxicidade da eritrosina B foi máxima, não ocorrendo divisões celulares. Além disso, o corante apresentou ter capacidade de ligar-se a moléculas de DNA<sup>27</sup>.

O corante também foi utilizado em testes de eletroforeses feitas em agarose, visando testar sua interação e efeitos acerca da movimentação dos ácidos nucleicos. Em exposições mais curtas, o corante apresentou alta capacidade de ligação às moléculas de DNA, causando um retardo do movimento das mesmas, quando comparado ao controle do experimento. Interessantemente, nas exposições longas, o efeito degradante do corante foi máximo, causando em todas as concentrações, um aumento de mobilidade do DNA<sup>27</sup>. O pesquisador também comprovou que a eritrosina B afeta a PCR da mesma maneira que o amarantho, na medida que a eficiência do teste mostrou-se concentração-dependente do corante em questão. Exposição prévia do DNA a concentrações mais elevadas da eritrosina B, diminuem a efetividade do PCR, confirmando que algumas moléculas do DNA possam sofrer alterações durante sua exposição ao corante<sup>27</sup>.

Corroborando com os indícios já descritos, Yassunaka et al.<sup>32</sup>, lançou mão da Inativação Microbiana Fotodinâmica (PDI) para comprovar suas hipóteses. Neste teste, fotossintetizantes (PS) ou corantes são ativados por irradiação de luz em presença de oxigênio, induzindo à produção de espécimes altamente reativos de oxigênio – que detém potencial causador de danos aos organismos microbianos. A eficácia da técnica é atribuível a vários fatores, tais como a estrutura celular, a organização, o estado fisiológico das bactérias, o grau de ligação e de penetração do PS nas bactérias, e as propriedades físico-químicas do

PS. Essa técnica mostra-se eficaz contra inúmeros microrganismos como bactérias gram-positivas, gram-negativas, suas respectivas formas vegetativas, esporos, fungos, vírus e protozoários; bem como organismos patogênicos e bactérias de deterioração alimentícia.

A eritrosina B é um xanteno caracterizado por uma forte absorção de luz no espectro gama de 500-550 nm, e apresenta a capacidade de iniciar consequentes reações fotoquímicas. Os estudos mostraram que sua característica molecular detém elevada capacidade fotodinâmica e diversas concentrações do corante, incluindo seus derivados, reduziram de maneira eficaz a sobrevivência bacteriana; dentre elas a *S. aureus* e a *E. coli*<sup>32</sup>.

Sirikaya e colaboradores<sup>28</sup> testaram, assim como anteriormente descrito no caso do amarantho, de que maneira a eritrosina B poderia conduzir a mutações genéticas. De maneira semelhante ao primeiro corante, o estudo foi conduzido alimentando-se larvas de moscas, da espécie *Drosophila melanogaster*, com concentrações de 1, 3 e 6 µg/mL de eritrosina B. As concentrações mais elevadas do corante, diferentemente do resultado encontrado com o corante amarantho, apresentaram resultados inconclusivos. Tal desfecho reforça a necessidade de que mais estudos sejam realizados para que as devidas conclusões, acerca do efeito específico da eritrosina B, no teste utilizado, possa ser comprovado<sup>28</sup>.

Por fim, Doguc et al.<sup>29</sup> demonstraram os efeitos que a exposição materna durante a gravidez, ao corante eritrosina B (0,1 mg/kg/dia), poderiam causar à prole. Os experimentos utilizados foram os mesmos para o corante amarantho e, as conclusões dos pesquisadores das atividades dos dois corantes também foram muito semelhantes<sup>29</sup>.

### Tartrazina

A tartrazina é um corante de coloração amarelo-alaranjado atualmente legalizado para fins industriais no Brasil<sup>24</sup>. A tartrazina vem sendo estudada desde os anos 70 nos Estados Unidos, sendo descoberto, nesta época, seu potencial de desencadear efeitos adversos quando consumida. Por isso, desde a década de 80, a FDA exige que o dito corante esteja listado no rótulo de quaisquer produtos que o tenham em sua composição. Tal imposição foi seguida pela Anvisa no Brasil, sendo uma obrigação o alerta da presença da tartrazina em rótulos desde 2002<sup>18</sup>.

Estudos mais atuais continuam a buscar uma melhor caracterização dos efeitos que o corante tartrazina possa vir desencadear no organismo humano, principalmente em escala molecular. Foram encontrados estudos acerca do corante, que descrevem suas propriedades tóxicas sistêmicas<sup>38</sup>, as maneiras que ele afeta o desenvolvimento corpóreo e metabólico<sup>39,40</sup>, sua capacidade moduladora de receptores hormonais<sup>41</sup>, a maneira com que ele interage com o DNA<sup>42</sup>, seus efeitos genotóxicos e citotóxicos<sup>27</sup>, seu potencial em causar efeitos adversos, em transmissão vertical, da mãe para a prole<sup>29</sup> e seus efeitos alérgicos<sup>43</sup>.

Pan et al.<sup>40</sup> demonstraram a ligação molecular entre a albumina plasmática e a tartrazina. Para tal, os pesquisadores utilizaram albumina humana e albumina bovina, ambas na concentração de  $5,0 \times 10^{-5}$  mol/L. A tartrazina, por sua vez, foi preparada na concentração de  $1,0 \times 10^{-5}$  mol/L. Foi realizada uma análise dessa interação utilizando a fluorescência, a fluorescência tridimensional, a absorção UV-vis e o dicróismo circular. Os dados obtidos pela técnica de fluorescência mostraram que a tartrazina pode ligar às duas albuminas e formar um complexo, através de um processo de ligação espontâneo, com ligações de *Van der Waals* e pontes de hidrogênio. Os resultados gerados pela fluorescência tridimensional, a absorção UV-vis e o dicróismo circular são confluentes e demonstram que a ligação entre a tartrazina e a

albumina plasmática altera a conformação da proteína, levando a um afrouxamento e um desdobramento do esqueleto proteico e a uma exposição das cavidades hidrofóbicas<sup>40</sup>.

Pretendendo avaliar a capacidade moduladora de receptores hormonais de estrógeno do corante tartrazina, Axon e colaboradores<sup>41</sup> realizaram uma série de experimentos para averiguar suas hipóteses. Foram feitos testes utilizando linhagens de células humanas de câncer de mama (linhagens MCF-7 e MDA-MB321), que expressavam receptores de estrógeno (ER) ER- $\alpha$ . Após o fim dos experimentos, concluiu-se que a tartrazina é um agonista de ER-  $\alpha$ , capaz de ligar-se a este receptor. Também descobriu-se que o corante é um agonista 50 vezes menos potente do que, por exemplo, o E2 (17 $\beta$ -estradiol) principal hormônio feminino. Os autores sugerem, no entanto, que caso um indivíduo consuma doses suficientes do aditivo, e caso este seja suficientemente absorvido, a tartrazina pode agir como um agonista de receptores estrogênicos, podendo induzir ou causar distúrbios neoplásicos ou, como é mais detalhadamente discutido por Axon e colaboradores, lesão colestatia<sup>41</sup>.

Objetivando demonstrar a relação do supracitado corante e os potenciais efeitos adversos no DNA, Kashanian e Zeidali<sup>42</sup> utilizaram o DNA das células do timo de um bezerro afim de visualizar suas propriedades de ligação com a tartrazina (em concentração de 10 nM). Para isso, utilizou-se um espectrofotômetro para obter-se o espectro UV-vis da interação DNA-tartrazina, um viscosímetro para mensurar a viscosidade e um espectropolarímetro para medir o dicróismo circular. O estudo demonstrou que a interação DNA-tartrazina afetou a estrutura helicoidal do DNA, além de evidenciar uma maior facilidade de ligação da tartrazina com o DNA desnaturado. Notou-se também uma pequena alteração na viscosidade do DNA ligado à tartrazina, e uma alteração no espectro de dicróismo circular, atestando assim, os danos ao DNA ocasionados pelo aditivo<sup>42</sup>.

Também visando analisar os efeitos genotóxicos da tartrazina Mpountoukas et al.<sup>27</sup> realizaram testes com células sanguíneas periféricas. Foram também utilizados dos mesmos protocolos experimentais dos testes com os corantes amaranho e eritrosina B<sup>27</sup>. Igualmente aos outros dois corantes, os pesquisadores evidenciaram que a tartrazina é capaz de alterar as taxas de divisão mitótica, além de apresentar nas concentrações mais elevadas (4,0 e 8,0 mM) alta citotoxicidade (ação nociva à célula, podendo causar sua morte). O corante também demonstrou capacidade de ligar-se ao DNA e obteve resultados semelhantes ao amaranho nos testes de eletroforese e PCR<sup>27</sup>.

Pretendendo verificar o papel alergênico da tartrazina e sua capacidade de induzir a liberação de histamina, Matsuo e colaboradores<sup>43</sup> realizaram um ensaio de liberação de histamina. Para tal, os pesquisadores coletaram amostras de sangue de pacientes com urticária idiopática e anafilaxia induzida por exercício ou alimento-dependente (FDEIA), do qual foram isolados os basófilos presentes. Nos testes subsequentes, foi comprovada a ação indutora da liberação de histamina pela tartrazina, concomitantemente com a exclusão da possibilidade deste aditivo ser um inibidor de COX-1 e COX-2 (Ciclo-oxigenase-1 e Ciclo-oxigenase-2)<sup>43</sup>.

Objetivando avaliar os efeitos sistêmicos tóxicos do corante tartrazina, especificamente nos biomarcadores do estresse oxidativo em órgãos como rim e fígado, Amin e colaboradores<sup>38</sup> utilizaram um grupo de ratos (*Rattus Norvegicus*), alimentados com soluções do corante, para verificar suas hipóteses. Os ratos foram nutridos com soluções de duas concentrações, uma de baixa concentração e outra de alta concentração (15 mg/Kg e 500 mg/Kg, respectivamente). Após o período designado de exposição aos corantes as amostras de sangue e tecido hepático foram coletadas dos animais a fim de realizar análises. Ao fim dessas, os autores concluíram que a ingestão de concentrações altas ou baixas de tartrazina altera as concentrações totais de colesterol e proteínas

sanguíneas e as atividades enzimáticas<sup>38</sup>. Além disso, a concentração total de proteínas plasmáticas foi aumentada, os níveis séricos de creatinina e albumina plasmática foram aumentados, a concentração dos níveis séricos de ureia e globulina foram aumentados e houve uma redução dos níveis totais de colesterol sanguíneo (concomitante a uma diminuição dos níveis séricos de HDL e LDL). As cobaias expostas ao corante também apresentaram perda de peso expressiva após o fim do experimento<sup>38</sup>.

Em relação à atividade de enzimas, observou-se um aumento das atividades enzimáticas ALT (alanina aminotransferase) e AST (transaminase glutâmico-oxalacética ou TGO), em concentrações altas e baixas do corante tartrazina, e da enzima ALP (fosfatase alcalina), apenas em concentrações elevadas do aditivo alimentar. Diferentemente, a enzima catalase, quando altas concentrações da tartrazina foram ingeridas, e SOD (superóxido dismutase), em doses baixas e altas do corante, apresentaram uma diminuição de suas atividades<sup>38</sup>. Concomitantemente, houve uma redução dos antioxidantes hepáticos DIM (di-indolimetano) e GSH (glutathiona), quando as cobaias foram alimentadas com todas as concentrações do corante estudado. Também houve um aumento do marcador de estresse oxidativo MDA (malondialdeído), em concentrações elevadas do aditivo<sup>38</sup>.

Visando analisar os efeitos tóxicos da tartrazina, e de que maneira este aditivo afeta o desenvolvimento corpóreo e metabólico, El-Wahab e Moram<sup>39</sup> realizaram experimentos com cobaias. As cobaias eram ratos albinos (linhagens *Sprague Dawley*), alimentados com uma dieta basal, que apresentava dose diária de 75 mg/kg de tartrazina, por 42 dias. Após o experimento foi constatado em ratos alimentados com o corante perda de peso expressiva, um aumento da taxa do consumo de ração, um aumento da atividade das enzimas ALT, AST e ALP, aumento da bilirrubina total, diminuição da concentração de hemoglobina e de células sanguíneas totais, aumento das concentrações

séricas de ureia e creatinina, aumento da concentração total de proteínas plasmáticas e albumina, redução das concentrações de GSH e diminuição da atividade de SOD<sup>39</sup>, o que corrobora com os achados de Amin e colaboradores<sup>38</sup>.

Ademais, Doguc et al.<sup>29</sup> demonstraram os efeitos que a exposição materna, ao corante tartrazina (7,5 mg/Kg/dia), durante a gravidez, poderiam causar à prole. Os experimentos foram os mesmos utilizados para os corantes amaranth e eritrosina B e, as conclusões dos pesquisadores da atividades dos três corantes também foi muito semelhante<sup>29</sup>.

### Conclusão

Os corantes amaranth, eritrosina B e tartrazina apresentaram potencial toxicológico e mutagênico em vários estudos. Baseados em diversos ensaios, as pesquisas científicas mostraram que tais corantes têm potencial nocivo expressivo: são capazes de alterar o material genético e causar danos citotóxicos e genotóxicos significativos. Além disso, tais aditivos têm capacidades para alterar, de maneira relevante o metabolismo corporal, interferindo na função de diversas enzimas e alterando padrões de concentrações de íons e proteínas plasmáticos de forma acentuada.

Em relação aos efeitos potencialmente alergênicos dos corantes não foi revisado, neste artigo, os potenciais alergênicos dos corantes amaranth e eritrosina B. Por outro lado, o corante tartrazina, como foi exposto, apresenta periculosidade quanto ao seu uso, no que tange suas características alergênicas.

Apesar da aceitabilidade do uso dos corantes estudados, em diversos países, é necessária cautela, pois os resultados dos experimentos aqui descritos são expressivos e merecem atenção. A larga escala com que essas substâncias são usadas é condição impulsionadora para estudos mais aprofundados, principalmente devido à exposição generalizada desses corantes alimentícios à população em geral, inclusive crianças. Portanto, é

imprescindível que a liberação e a regulamentação do uso destas substâncias seja reavaliada, em uma tentativa de minimizar a exposição disseminada da população a estes aditivos alimentares.

### Referências

- 1- Saltmarsh, M. Essential guide to food additives (4th ed.). 2013, Cambridge, UK: RSC Publishing.
- 2- Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J. Health safety issues of synthetic food colorants. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2015, No prelo. doi:10.1016/j.yrtph.2015.09.026.
- 3- Spencer M. Food additives. Postgraduate Medical Journal, 1974, (50):620-624.
- 4- Polak J, Jarosz-Wilkolazka A, Szuster-Ciesielska A, Wlizio K, Kopycinska M, Sojka-Ledakowicz J, Lichawska-Olczyk J. Toxicity and dyeing properties of dyes obtained through laccasemediated synthesis. Journal of Cleaner Production, 2015, No prelo. doi:10.1016/j.jclepro.2015.07.044
- 5- Brasil. Agência de Vigilância Sanitária (Anvisa). Regulamentação de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia no Brasil. Disponível em: <<http://goo.gl/eM6LPa>> Acesso em: 31/10/2015.
- 6- Prado MA, Godoy HT. Corantes artificiais em alimentos. Alimentação e Nutrição, 2003, 14(2):237-250.
- 7- Ashfaq N, Masud T. Surveillance on Artificial Colours in Different Ready to Eat Foods. Pakistan Journal of Nutrition, 2002, 1(5):223-225.
- 8- Carvalho PR. Aditivos dos Alimentos. Revista Lagos, 2005, 1(12):57-69.

- 9- Prado MA, Godoy HT. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Química Nova*, 2007, 30(2):268-273.
- 10- Hamerski L, Rezende MJC, Silva BV. Usando as Cores da Natureza para Atender aos Desejos do Consumidor: Substâncias Naturais como Corantes na Indústria Alimentícia. *Revista Virtual em Química*, 2013, 5(3):394-420.
- 11- Marmitt S, Pirotta LV, Stülz S. Aplicação de fotólise direta e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. *Revista Química*, 2010, 33(2):384-8.
- 12- Freitas, AS. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. *Acta Tecnológica*, 2012, 7(2):65-72.
- 13- Araujo ACF, Borin MF. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. *Brasília Médica*, 2012, 49(4):267-278.
- 14- Mizutani T. Toxicity of Xanthene Food Dyes by Inhibition of Human Drug-Metabolizing Enzymes in a Noncompetitive Manner. *Journal of Environmental and Public Health*, 2009, (2009):1-9.
- 15- Polônio MLT, Peres F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. *Caderno de Saúde Pública*, 2009, 25(8):1653-1666.
- 16- Schumann SPA, Polônio MLT, Gonçalves ECBA. Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2008, 28(3): 534-539.
- 17- Dwivedi K, Kumar G. Genetic Damage Induced by a Food Coloring Dye (Sunset Yellow) on Meristematic Cells of Brassica campestris L. *Journal of Environmental and Public Health*, 2015, (2015):1-5.
- 18- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico nº. 30, de 24 de julho de 2007. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/30\\_240707.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/30_240707.htm)> Acesso em: 31/10/2015.
- 19- Antunes LMG, Araújo MCP. Mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. *Revista de Nutrição*. 2000, 13:81-88.
- 20- Constant PBL, Stringheta PC, Sandi D. Corantes Alimentícios. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 2002, 20(2):203-220.
- 21- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a6809d8047457a1c86c0d63fbc4c6735/Compendio\\_marco\\_2011.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a6809d8047457a1c86c0d63fbc4c6735/Compendio_marco_2011.pdf?MOD=AJPERES)> Acesso em: 31/10/2015.
- 22- Machado-Santelli GM, Silveiro F. Mutagênese e Carcinogênese. In Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JAO, Fundamentos de toxicologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2014.
- 23- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *International Journal of Surgery*, 2010, 8:336-341.
- 24- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 44 de 1977. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/29906780474588e892cdd63fbc4c6735/RESOLUCAO\\_C\\_NNP\\_A\\_44\\_1977.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/29906780474588e892cdd63fbc4c6735/RESOLUCAO_C_NNP_A_44_1977.pdf?MOD=AJPERES)> Acesso em: 31/10/2015.

- 25- Estados Unidos. Food and Drug Administration. Compliance Program Guidance Manual: Domestic Food Safety. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ComplianceEnforcement/ucm072848.pdf>> Acesso em: 31/10/2015.
- 26- Jabeen HS, Rahman S, Mahmood S, Anwer S. Genotoxicity Assessment of Amaranth and Allura Red Using *Saccharomyces Cerevisiae*. *Bull Environ Contam Toxicol* (2013) 90:22–26
- 27- Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, Mourelatos C, Lambropoulou V, Lialiaris T. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48:2934-2944.
- 28- Sarıkaya R, Selvi M, Erkoç F. Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. *Chemosphere*, 2012, 88:974–979.
- 29- Doguc DK, Ceyhan BM, Ozturk M, Gultekin F. Effects of maternally exposed colouring food additives on cognitive performance in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 2012, 29(7):616-623.
- 30- Weisburger JH. Carcinogenicity and mutagenicity testing, then and now. *Mutation Research*, 1999, 437: 105-112
- 31- Chequer FMS, Venâncio VP, Bianchi MLP, Antunes LMG. Genotoxic and mutagenic effects of erythrosine B, a xanthene food dye, on HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50:3447-3451.
- 32- Yassunaka NN, Freitas CF, Rabello BR, Santos PR, Caetano W, Hioka N, Nakamura TU, Abreu Filho BA, Mikcha JMG. Photodynamic Inactivation Mediated by Erythrosine and its Derivatives on Foodborne Pathogens and Spoilage Bacteria. *Current Microbiology*, 2015, 71:243-251.
- 33- Knasmüller S, Parzefall W, Sanyal R, Ecker S, Schwab C, Uhl M, Mersch-Sundermann V, Williamson G, Hietsch G, Langer T, Darroudi F, Natarajan AT, Use of metabolically competent human hepatoma cells for the detection of mutagens and antimutagens. *Mutation Research*, 1998, 402:185-202.
- 34- Collins AR, Dobson VL, Dusinská M, Kennedy G, Stětina R, The comet assay: what can it really tell us? *Mutation Research*, 1997, 375:183-193.
- 35- Gontijo AMMC, Tice R. Teste do cometa para a detecção de dano ao DNA e reparo em células individualizadas in: *Mutagênese Ambiental*. ed. Primeira, Canoas: Editora ULBRA, 2003, p.247-279.
- 36- Speit, G, Hartmann, A. The Comet Assay (Single-Cell Gel Test) – A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. *Methods in Molecular Biology*, 1999, 113: 203-212.
- 37- Thomas P, Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay in Lymphocytes. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 682:217-234.
- 38- Amin KA, Hameid HA, Elsttar AHA, Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48:2994-2999.
- 39- El-Wahab HMFA, Moram GSE. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicology and Industrial Health*, 2012, 29(2):224-232.
- 40- Pan X, Qin P, Liu R, Wang J. Characterizing the Interaction between Tartrazine and Two Serum Albumins by a Hybrid Spectroscopic Approach.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59:6650-6656.
- 41- Axon A, May, FEB, Gaughan LE, Williams FM, Blain PG, Wright MC. Tartrazine and sunset yellow are xenoestrogens in a new screening assay to identify modulators of human oestrogen receptor transcriptional activity. *Toxicology*, 2012, 298:40-51.
- 42- Kashanian S, Zeidali SH. DNA Binding Studies of Tartrazine Food Additive. *DNA and Cell Biology*, 2011, 30(7):499-505.
- 43- Matsuo H, Yokooji T, Morita H, Ooi M, Urata K, Ishii K, Takahagi S, Yanase Y, Hiragun T, Mihara S, Hide M. Aspirin Augments IgE-Mediated Histamine Release from Human Peripheral Basophils via Syk Kinase Activation. *Allergology International*, 2013, 62:503-511.